

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Evasão Bacteriana ao Sistema do Complemento

Jéssica Mariana de Sousa Almeida

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Evasão Bacteriana ao Sistema do Complemento

Jessica Mariana de Sousa Almeida

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientador: Doutor José Moniz-Pereira, Professor Catedrático, Faculdade de
Farmácia da Universidade de Lisboa**

2019

Resumo

Um dos aspetos mais importantes do Sistema imunitário inato é a atividade bactericida intrínseca ao Complemento. Este representa uma primeira linha de defesa com particular relevância e eficácia na ativação direta e imediata após a invasão sistémica por um potencial patógeno. No entanto, vários agentes patogénicos encontraram mecanismos que lhes permitem evadir e contornar a ação do complemento. Como tal, torna-se pertinente uma descrição geral dos vários mecanismos utilizados na evasão ao Sistema do Complemento, tanto por bactérias Gram-positivas como por bactérias Gram-negativas. Estes mecanismos podem ser separados em três grandes grupos, nomeadamente, o recrutamento de reguladores da ativação do Complemento provenientes do Hospedeiro, a inativação por clivagem enzimática e a inibição e/ou modulação da ativação do Complemento por interação direta com proteínas bacterianas. Dentro de cada um destes grupos são dados os exemplos mais relevantes e pertinentes das espécies bacterianas que os utilizam como forma de escape ao Complemento.

Palavras-chave: complemento, evasão, bactérias, recrutamento, reguladores

Abstract

One of the most important aspects of the innate immune system is the bactericidal activity intrinsic to the Complement. It is the first line of defense representing a particularly relevant and effective defense system which is immediately and directly activated upon entry of a pathogen. However, several pathogens have found mechanisms that allow them to evade and bypass the action of the complement. As such, it becomes necessary a general description of the various mechanisms used to evade the Complement System, both by Gram-positive bacteria and by Gram-negative bacteria. These mechanisms can be separated into three major groups, namely recruitment of Complement activation regulators from the host, inactivation by enzymatic cleavage and inhibition and / or modulation of complement activation by direct interaction with bacterial proteins. Within each of these groups are given the most relevant examples of the bacterial species that use them as a way of escaping the Complement.

Keywords: complement, evasion, bacteria, recruitment, regulators

Agradecimentos

Dedico esta tese a Oleksandr Milevskyy, por ser a pessoa que sempre me fez acreditar e não desistir.

‘Tudo é considerado impossível, até acontecer’

Nelson Mandela

Abreviaturas

Ac - Anticorpo

Ag - Antígeno

BibA - Adesina bacteriana imunogénica do *Streptococcus* B

BGN - Bactérias Gram-negativas

C1-INH - Inibidor de C1

C4BP - Proteína de ligação a C4

CHIPS - Proteína inibidora de quimiotaxia de *S. aureus*

CRASP - Proteínas superficiais de aquisição de reguladores do Complemento

DAF - Factor acelerador de decaimento

Eap - Proteína de aderência extracelular

Efb - Proteína extracelular de ligação ao fibrinogénio

Ehp - Proteína homóloga de Efb

Fc - Fração cristalizável do anticorpo

FHbp - Proteína de ligação ao Factor H

FHL -1- Proteína tipo Factor H-1

Ig - Imunoglobulina

LPS - Lipopolissacáridos

MAC - Complexo de Ataque à membrana

MASP - Proteases de Serina Associadas a MBL

MCP - Proteína co-factor de membrana

MBL – Lectina de ligação à Manose

OmpA – Proteína de membrana externa A

OmpP5 - Proteína de membrana externa P5

OspE - Proteínas de superfície externa E

PaAP - Protease alcalina de *pseudomonas aeruginosa*

Evasão Bacteriana ao Sistema do Complemento

PAE - Elastase de pseudomonas aeruginosa

PCR - Proteína C-reativa

PepO - Endopeptidase O

Por - Porina

PspC - Proteína pneumocócica de superfície C

SAK - Estafiloquinase

SAP - Proteína sérica amiloide

SSL-7 - Proteína estafilocócica tipo superantígeno-7

Sbi – Proteína estafilocócica de ligação a IgG

SCIN - Inibidores estafilocócicos do complemento

SIC - Inibidor estreptocócico do Complemento

Conteúdo

| | |
|--|----|
| 1. O Sistema Complemento | 8 |
| 1.1 Via Clássica | 9 |
| 1.2 Via das Lectinas | 10 |
| 1.3 Via Alternativa | 11 |
| 2. Proteínas reguladoras do Complemento | 12 |
| 3. Estrutura da Parede Celular das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas | 13 |
| 4. Complexo de Ataque à Membrana | 14 |
| 5. Mecanismos de evasão ao Complemento | 16 |
| 5.1 A cápsula | 17 |
| 5.2 Recrutamento dos reguladores da ativação do Complemento | 18 |
| 5.3 Inativação por degradação enzimática | 20 |
| 5.4 Inibição por interação direta com proteínas de origem bacteriana | 21 |
| Interação ao nível de C1 | 22 |
| Interação ao nível de C3 | 22 |
| Interação ao nível de C4 | 22 |
| Interação ao nível de C5 | 23 |
| Interação ao nível do Complexo de ataque à membrana | 23 |
| 5.5 Outros mecanismos | 23 |
| 6. Conclusões | 24 |
| 7. Referências Bibliográficas | 26 |

1. O Sistema Complemento

O complemento é um mecanismo de defesa essencial ao organismo, dado que desempenha um papel abrangente no sistema imunológico. Efetivamente, as suas proteínas são tantas e tão diversas que atualmente ainda se observam novos aspetos das suas funcionalidades no desenvolvimento de uma resposta imunitária eficaz(1). O sistema do complemento representa a imunidade inata no seu esplendor e ainda estabelece uma interface entre os dois ramos do sistema imunológico: a imunidade inata e adquirida. Por este motivo, o interesse no sistema do complemento predomina na literatura, em particular, nas várias estratégias de evasão desenvolvidas pelas bactérias como forma de fuga ao seu efeito bactericida.

O estudo do complemento é recente e o conhecimento nesta área tem progredido de uma forma acelerada. O complemento foi descoberto no final do século XIX, por Jules Bordet. Este microbiologista de origem belga, descobriu a existência do complemento, numa investigação que envolvia soro de ovelha e *Vibrio Cholerae*. Bordet concluiu que os anticorpos utilizados necessitavam de outro componente sérico para ‘complementar’ a sua função. Só muito posteriormente, é que foi possível verificar que a ativação do complemento não era exclusivamente feita pelos anticorpos, pelo que a via de ativação que de facto requer anticorpos ficou conhecida como via Clássica.

O termo Complemento refere-se a um sistema composto por mais de 50 proteínas, séricas e membranares, cujas proteínas efetoras são geradas através de uma ativação sequencial de zimogénios(1), que se encontram presentes no soro na forma inativa, com a finalidade de proteger o hospedeiro de microrganismos externos, potencialmente patogénicos. As diversas funções do Complemento incluem a indução da inflamação pela libertação de anafilatoxinas; sinalização de patogénios para destruição através da opsonização; morte celular de patógenos mediada pelo complexo de ataque à membrana (MAC) (1). O complemento acaba por aumentar a resposta dos anticorpos e a própria memória imunológica, assim como a apresentação de antígenos(1). A ativação do complemento vai desencadear toda uma resposta imunitária através das anafilatoxinas C3a, C4a e C5a, que aumentam o aporte sanguíneo para o local e iniciam o chamamento de células inflamatórias e fagocíticas, mas principalmente de mastócitos(1). Com vista à eliminação dos patógenos, a opsonização é o processo pelo qual ocorre a sinalização dos mesmos, recorrendo à deposição na sua

superfície de múltiplas cópias dos fragmentos C3b e C4b que facilitam a fagocitose. A importância do Sistema do Complemento é comprovada em pacientes com deficiências genéticas nos seus componentes cuja predisposição para infeções bacterianas recorrentes aumenta. Por exemplo, uma deficiência nos componentes de C5 a C9, aumenta a suscetibilidade à infeção por espécies de *Neisseria*, responsáveis pela gonorreia e meningites(2).

A maioria dos componentes do complemento são sintetizados no fígado, a nível dos hepatócitos, no entanto, alguns são também produzidos por monócitos, macrófagos, fibroblastos, e células epiteliais do trato gastrointestinal e urinário. A ação do complemento culmina com a perfuração da membrana dos patógenos através da formação do MAC. O MAC é formado pelos componentes C5b a C9 do complemento, no entanto, são necessárias pelo menos dez a dezasseis cópias de C9 para que se forme o poro(1), visto que é este fator que atravessa efetivamente a membrana.

O complemento é a primeira linha de defesa do organismo contra patógenos após penetração dos mesmos nas barreiras epiteliais, e a sua ativação é possível através de 3 vias: a Via Alternativa, a Via das Lectinas, e a Via Clássica. A diferença entre as vias de ativação está principalmente no fator iniciador das mesmas, sendo que todas elas acabam por culminar num passo crucial, a formação dos complexos enzimáticos, convertase C3 capaz de clivar a proteína C3, em 2 fragmentos: C3a, e a C3b, e convertase C5 responsável pela clivagem de C5 em C5a e C5b. A Via Alternativa é iniciada quando há uma ligação da C3b à superfície dos patogénicos. A Via das Lectinas consiste na ligação da MBL, uma proteína sérica, a grupos de manose ou frutose na superfície dos patogénios e, finalmente, a Via Clássica, a última a responder, é através da ligação de C1 com os complexos Ag-IgG e Ag-IgM, ou ainda com Proteína C reactiva, ou PCR, à superfície do patogénio(1,2).

1.1 Via Clássica

Qualquer molécula derivada de um patógenos pode potencialmente ativar o sistema através desta via, pela ligação de um anticorpo a um epítipo dessas moléculas. A formação de um complexo Ag-Ac induz modificações conformacionais na Fração Cristalizável do Anticorpo, nos anticorpos IgG e IgM, nas não nos anticorpos IgE e IgA. Tais modificações conformacionais expõem um local de ligação ao componente C1 do

Complemento, ou unidade de reconhecimento (1). No soro, C1 existe como um complexo macromolecular constituído por C1q e por duas moléculas cada das duas proteases C1r e C1s, sendo este complexo estabilizado pelo catião cálcio(1). A ligação da C1q à região Fc do complexo Ag-Ac, induz uma modificação conformacional em uma das moléculas C1r que converte esta protease na sua forma ativa(1). De seguida, são ativadas as duas moléculas de C1s(1). Estas proteases têm dois substratos, C4 e C2(1). A C1s hidrolisa a C4 em C4a e C4b, sendo que este último não só se liga covalentemente à superfície do alvo, nas proximidades de C1, como também se liga a C2(1). Ao ligar-se a C4b, C2 torna-se suscetível à clivagem pela enzima C1s circundante, e o fragmento C2b difunde-se ao libertar-se do complexo enzimaticamente ativo C4b2a, a convertase C3 da via Clássica, posteriormente, ao qual se junta um fragmento C3b, formando o complexo C4b2a3b, a convertase C5 da via Clássica(1). A via Clássica também pode ser ativada pelas proteínas séricas amilóide P (SAP) e pela PCR, uma proteína pentamérica de fase aguda que se liga aos polissacáridos das paredes de alguns *Streptococcus*, ativando o Complemento(1).

1.2 Via das Lectinas

Esta via de ativação utiliza lectinas e/ou ficolinas, em vez de anticorpos, como factor de iniciação da cascata do complemento. As lectinas são proteínas que reconhecem carboidratos específicos encontrados maioritariamente na superfície de procariontes, tais como *Salmonella*, *Listeria*, e *Neisseria*, de fungos como *Cryptococcus neoformans* e *Candida albicans* e até no invólucro de alguns vírus, tais como o HIV-1 e o Virus Sincicial respiratório (1). Dentro do grupo das lectinas, a lectina de ligação à manose, ou MBL, foi a primeira a demonstrar a sua capacidade de iniciar a ativação do complemento. Esta liga-se a resíduos de manose e, no soro, encontra-se associada a Proteases de serina, designadas por proteínas MASP, a MASP1, MASP2 e MASP3. A MASP-2 tem uma estrutura semelhante às proteases de Serina C1s, no sentido em que ambas são capazes de clivar C2 e C4, originando a convertase C3, ou seja, C4b2a, tal como acontece na via Clássica(1). Desta forma, a via das Lectinas utiliza todos os componentes da via Clássica, à exceção do complexo C1. Logo, na via das Lectinas, a convertase C5 é também ela C4b2a3b. Assim sendo, é possível afirmar que a Via das Lectinas é homóloga à Via Clássica(2).

1.3 Via Alternativa

Designada desta forma por ter sido descoberta posteriormente, a Via Alternativa, ou da Properdina, é a primeira via pela qual ocorre a ativação do Complemento, no início da infeção. Apenas um componente na via alternativa parece carecer de um equivalente nas vias Clássica e das Lectinas, em termos de função: o factor D. Este factor é uma protease de serina iniciadora, sendo também a única protease iniciadora a circular sob a forma ativa e não como zimogénio(3). Em primeiro lugar, esta via inicia-se com a ligação da C3b à superfície dos microrganismos através da ligação tioéster(1). De realçar que C3b encontra-se em elevadas concentrações no soro. Os fragmentos C3b que ficam ligados covalentemente aos patógenos, tem a capacidade de ligar-se a outra proteína sérica, o fator B, tornando-o suscetível à clivagem pelo fator D(1). Desta forma, o fator B é clivado, libertando um pequeno fragmento, o Ba, que se difunde, e confere atividade catalítica a Bb, que continua ligado a C3(1). Assim se forma C3bBb, a convertase C3 da Via Alternativa. Este complexo, que se encontra ancorado à membrana, é instável, a não ser que esteja ligado à Properdina, também designada por factor P. A properdina desempenha um papel fundamental na estabilização da C3 convertase formada por esta via(1). Tal como a convertase C5 da Via Clássica, e das Lectinas, é formado pela adição de C3b ao Complexo C4b2a convertase C3, também a convertase C5 da via Alternativa é formada pela adição de C3b à convertase C3 desta via.

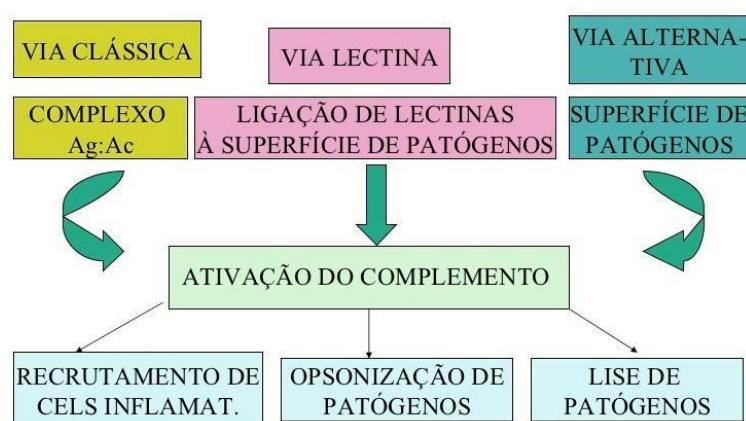


Figura1-Vias de ativação do Complemento

2. Proteínas reguladoras do Complemento

Como vários componentes reguladores do Sistema do Complemento estão localizados nas membranas celulares, o termo complemento agora inclui proteínas e glicoproteínas não só séricas, mas também plasmáticas e das membranas. As proteínas reguladoras do complemento controlam todas as vias de ativação do Complemento e atuam de forma a impedir a geração da convertase C3 e consequentemente prevenir uma ativação inapropriada do complemento. Existem diferentes proteínas com esta finalidade, sendo elas proteínas solúveis, assim como a proteína de ligação a C4 (C4BP), o Fator H, proteínas relacionadas com o Factor H, por exemplo, a proteína S, a clusterina, e o Factor I; ou proteínas de superfície celular, assim como o factor de aceleração do decaimento (DAF, também conhecido por CD55), a proteína Cofator membranar de proteólise (MCP, também conhecido por CD46), o recetor do complemento (CR1, também conhecido por CD35) e o CD59 (protectina) que impede a formação do complexo MAC, inibindo a ligação de C9 ao complexo C5b678(4,5).

No caso de uma molécula de C3b ligar-se a uma célula do hospedeiro, são várias as proteínas reguladoras que intervêm para impedir o prosseguimento da ativação do Complemento. As proteínas vão interagir com o C3b, impedindo que se forme a convertase ou promovendo a sua rápida dissociação. Desde logo, o CR1, o factor H e o DAF competem com o factor B pela ligação a C3b que já esteja associada à membrana celular, e também têm a capacidade de deslocar Bb de uma convertase que já tenha sido eventualmente formada. Por outro lado, a formação da convertase também pode ser impedida pela clivagem de C3b ou de C4b aos seus derivados inativos iC3b e iC4b, pela protease plasmática Factor I, mas esta clivagem só é possível quando estes estão ligados a um cofator, tal como o Factor H, CR1 e MCP(2). O factor H trata-se de uma proteína que serve de cofator para o C3b e que se encontra frequentemente associado a este. Ele liga-se preferencialmente a moléculas de C3b que se encontram ancoradas a células do hospedeiro devido à sua afinidade para os resíduos de ácido siálico que se encontram presentes nestas células, demonstrando assim especificidade no reconhecimento de self e non-self. A ativação de C1 é controlada pelo inibidor plasmático de proteases de serina, ou serpina, o C1 inibidor (C1INH). O C1INH liga-se às enzimas ativas C1r:C1s e promove a sua dissociação de C1q. Desta forma, C1INH limita o tempo durante o qual

C1s é capaz de clivar C4 e C2 assim como limita a ativação espontânea de C1 no plasma(4). A proteína de ligação a C4, ou C4BP, desloca C2b da convertase C4b2b das vias Clássica e das lectinas. A proteína S e a clusterina são proteínas solúveis que se ligam a C5b67, e impedem a sua inserção na membrana celular. Felizmente, a maioria dos agentes infecciosos é desprovida de resíduos de ácido siálico, bem como de mecanismos protetores e logo permanecem suscetíveis à ação do complemento(4).

3. Estrutura da Parede Celular das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas

A estrutura da parede celular das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas são diferentes. A parede celular das bactérias Gram-positivas é constituída por uma camada espessa e densa de peptidoglicano (15-30 nm) e reveste toda a membrana celular(6). Pelo contrário, nas bactérias Gram-negativas, a camada de peptidoglicano tem apenas 2-3 nm e encontra-se entre 2 bicamadas fosfolipídicas, a membrana externa e a membrana citoplasmática(6). O espaço entre as duas membranas designa-se por espaço periplasmático. Outro aspeto importante prende-se com a composição em lípidos, a parede celular das bactérias Gram-positivas não contém lípidos, à exceção de *Mycobacterium*, *Nocardia* e certas estirpes de *Corynebacterium*(6). Em vez disso, apresenta ácidos teicóicos e lipoteicóicos(6). Já a membrana externa da parede das bactérias Gram-negativas, apresenta um elevado teor em lípidos, sendo constituída por fosfolípidos, lipopolissacáridos (LPS), ancorados pelo Lípido A, e proteínas(6).

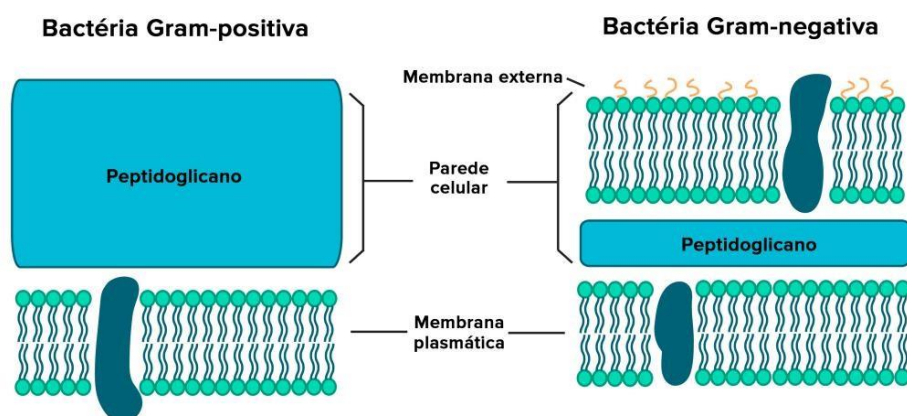


Figura2- Esquema da estrutura da parede celular nas Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

Estas diferenças na estrutura das duas paredes celulares são muito importantes porque vão influenciar a forma como o Complemento atua nas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Nas bactérias Gram-positivas, é assumido que a montagem do MAC fique presa na camada de peptidoglicano, portanto, impossibilitada de alcançar a membrana citoplasmática. No entanto, a interação do MAC com este tipo de bactérias não foi muito estudada, pelo que este pressuposto deveria ser alvo de investigação.

4. Complexo de Ataque à Membrana

No caso das Bactérias Gram-negativas, devido à estrutura da sua parede celular, o Complexo de Ataque à Membrana, também denominado complexo C5b6789, complexo C5b-C9, ou simplesmente MAC, é constituído à superfície da bactéria e inserida de uma forma estável na membrana externa. Esta unidade lítica é formada pelas 5 proteínas terminais do complemento. O MAC culmina em lesões tubulares e arredondadas características, nas membranas alvo, visíveis em microscopia eletrónica, com diâmetro aproximado entre 70 e 100 Å(2) – Figura 3. Este complexo permite a penetração de enzimas como a lisozima no interior da bactéria, permite a passagem livre de solutos e água entre a bicamada lipídica, causando perda de homeostase celular, a disrupção do gradiente de protões e culmina na destruição das células bacterianas, afetando particularmente as Gram-negativas. O componente C9 é semelhante à perforina, que é produzida pelas células T citotóxicas e pelas células NK(4). São necessárias, em média, 10 a 16 cópias do componente C9 para formar o poro(4).

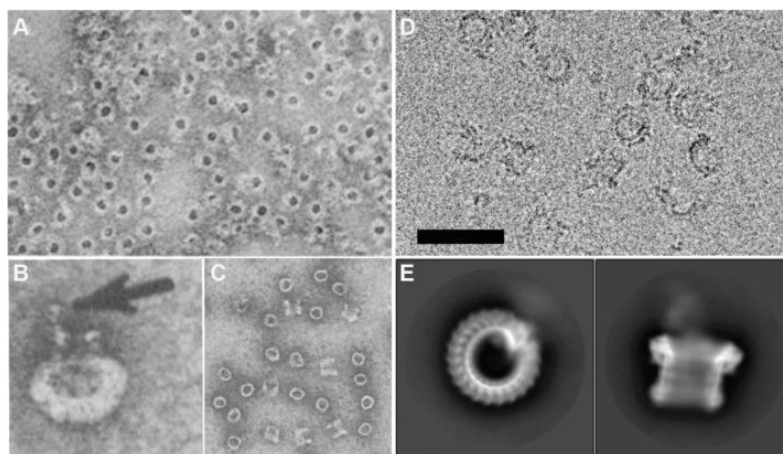


Figura 3-Fotografia ao Microscópio Eletrónico dos poros formados pelo Complexo de Ataque à membrana(7)

Relativamente à montagem do complexo, para que esta ocorra, é necessário que primeiramente a bactéria esteja marcada com fragmentos C3b. O fragmento C3b é originado através da clivagem com a convertase C3 formada durante a ativação do complemento. Após a clivagem, este componente sofre uma alteração conformacional enorme aquando da libertação do fragmento C3a, em que o seu domínio tipo tioéster deixa de estar sob a alçada deste e desloca-se para a periferia, reagindo imediatamente com moléculas que estejam na superfície da bactéria, originando uma ligação covalente(8). Quando a concentração de C3b depositada na superfície-alvo é alta, os fragmentos de C3b reagem com a convertase C3 e formam as convertases C5(8). Tal como acontece com o seu homólogo C3b, também o fragmento C5b sofre alterações conformacionais no seu domínio tipo tioéster, contudo, não reage com superfícies próximas, ao invés, inicia uma sequência de montagem específica, devido à sua instabilidade que requer a ocorrência de uma ligação com C6 para se estabilizar(8). Por outro lado, as interações iónicas entre C5 e C7 permitem que este último seja atraído no soro, aumentando a velocidade do próximo passo na cascada do complemento(8). Após a incorporação de C7, o complexo tem tendência para agregação, provavelmente devido à exposição de regiões hidrofóbicas(8). Como consequência, o complexo pode associar-se a membranas próximas num espaço muito curto de tempo. A incorporação de C8 no complexo ancorado torna a inserção membranar do complexo anterior mais profunda, devido a uma rotação de 22° que permite o acesso de múltiplas moléculas de C9(8). Desde a descoberta de Poli(C9) que é aceite que as lesões membranares com a forma de anel são causadas pelo próprio C9, e que C5b-8 age principalmente com um recetor que marca a célula alvo(8).

Embora o MAC seja formado à superfície da membrana externa das bactérias Gram-negativas, para que ocorra a morte celular, é necessário que seja perturbada a membrana citoplasmática. Contudo, as dimensões do poro formado são insuficientes para que este atravessasse ambas as membranas, externa e interna (9). Para que seja compreendido de que forma o MAC perturba a membrana citoplasmática são necessários mais estudos. Existem explicações putativas, nomeadamente, que a polimerização das moléculas de C9 tem um efeito do tipo detergente, permitindo mais moléculas C9 danifiquem o alvo principal do MAC, a membrana citoplasmática(10)(11).

A arquitetura geral da superfície bacteriana pode influenciar a probabilidade de inserção do complexo MAC nos domínios lipídicos, ou seja, um largo número de proteínas na membrana externa pode alterar as propriedades biofísicas da bicamada, reduzindo a área superficial e a fluidez dos domínios lipídicos, que é essencial para a ligação e montagem do Complexo de Ataque à Membrana(11).

5. Mecanismos de evasão ao Complemento

As bactérias escapam da ação do complemento ao se mascararem, para serem confundidas com o hospedeiro, ou inibirem a propagação da cascata(4). Relativamente às estratégias de evasão ao Complemento, em primeiro lugar vão ser descritas as formas de evasão mais gerais e inespecíficas, como a cápsula, que evita a ativação do complemento pela via alternativa, e bloqueia o reconhecimento pelos fagócitos; e depois mecanismos mais específicos, dos quais serão dados exemplos das bactérias que maior importância têm neste tema, que são as bactérias que efetivamente causam septicémias e meningites. Estes mecanismos podem ser condensados em algumas estratégias bem-sucedidas: a captação das proteínas reguladoras do complemento oriundas do hospedeiro, a modulação ou inibição da ativação do complemento por interação direta com proteínas bacterianas e a inativação por degradação enzimática de elementos do complemento. Existem depois alguns aspetos relativos à própria estrutura bacteriana que podem ser responsáveis pela evasão ao complemento em determinadas situações.

De facto, em termos genéticos, os genes envolvidos na codificação de proteínas dos *pili*, cápsula e Lipopolissacáridos (LPS), sobressaíram entre os 87 genes validados como sendo genes implicados na evasão ao complemento, o que aponta para a importância da superfície bacteriana no escape ao sistema do Complemento(12). Relativamente ao LPS das bactérias Gram-negativas, devido às suas longas cadeias e ramificações, este antigénio pode impedir o desenvolvimento do MAC por inacessibilidade dos elementos intervenientes à membrana externa(1,13). A estrutura do próprio LPS difere entre estirpes devido à adaptação a diferentes ambientes, o que influencia a capacidade de evasão ao Complemento ou estimulação da ativação do mesmo. Tais modificações no LPS incluem o alongamento e alterações da composição do antigénio O. O alongamento das cadeias ramificadas do LPS leva a uma deposição de C3b mais longe da superfície-alvo. Um dos genes identificados como sendo

importantes na evasão ao complemento é o gene *rfaH*, que se encontra, por exemplo, em *Klebsiella pneumoniae*, codificando para um fator de transcrição responsável pelo alongamento do antígeno O(13). As estirpes que sejam desprovidas de antígeno O são mais suscetíveis ao soro quando comparadas com estirpes que possuem uma longa cadeia ramificada de antígeno O, provavelmente porque esta cadeia pode ligar-se ao C1 inibidor, C1-Inh, logo protegendo a bactéria da ligação direta a C1q, o que resulta na evasão à Via Clássica e das Lectinas. No entanto é de realçar que esta estratégia de evasão ao Complemento é uma exceção e não a regra, sendo que apenas algumas estirpes resistentes de *E. coli* e *Salmonella* conseguem efetivamente escapar ao Complemento utilizando esta estratégia de evasão(1,3).

5.1 A cápsula

A cápsula, sendo a estrutura que reveste toda a bactéria, é um dos fatores de virulência mais importantes e uma das possíveis formas de evasão ao Complemento. As cápsulas são geralmente constituídas por polissacáridos de elevado peso molecular com uma estrutura linear ou ramificada que apresenta repetições de um a sete unidades de monossacarídeos. A cápsula afirma-se como um mecanismo de evasão porque, de uma forma geral, fornece uma barreira que impede a morte celular através do MAC, protege as bactérias da deposição por C3b à superfície da membrana externa e ainda mascara epitopos impedindo que sejam reconhecidos por anticorpos.

Um dos aspetos mais importantes relativamente à cápsula prende-se com a sua própria composição, pois os resíduos de açúcares podem ativar o Complemento, ou mascarar a bactéria perante o mesmo. Logo, se na composição da cápsula existirem resíduos de manobiose ou ramnobiase, estes vão ativar o complemento através da Via das Lectinas. Por esta razão, algumas espécies, como por exemplo, a *Klebsiella pneumoniae*, têm a capacidade de modificar a composição da sua cápsula para evitar o reconhecimento pelo Via das Lectinas do Complemento(13). Foi verificado que algumas estirpes do serotipo K2 desta espécie possuía a sua composição de glicanos alterada e desprovida de mannobiase ou ramnobiase(13).

Também se encontra bem descrita na literatura a cápsula de *S. pyogenes*, constituída por ácido hialurónico. Ao mimetizar o próprio tecido conjuntivo humano, a

cápsula oculta a bactéria e impede o seu reconhecimento pelo sistema imunológico, incluindo o complemento(2).

5.2 Recrutamento dos reguladores da ativação do Complemento

Como a maioria dos patógenos não são capazes de expressar as proteínas reguladoras do Complemento, estes foram adaptando-se através da expressão de moléculas à sua superfície capazes de atrair os reguladores do Complemento provenientes do hospedeiro. Desta forma os patógenos procedem à captação de reguladores solúveis, que se encontram a circular no plasma humano. São três os reguladores que são principalmente utilizados pelas bactérias: o fator H, o fator relacionado com o mesmo 'Factor H like', FHL-1, e a proteína de ligação a C4, C4BP(14). Os patógenos que se ligam selectivamente ao factor H são principalmente a *Escherichia coli*, o *Haemophilus influenzae*, a *Neisseria spp.*, os estreptococos e *Borrelia spp.* De facto, este mecanismo de evasão é importantíssimo para a sobrevivência destas espécies no soro do hospedeiro, sendo que entre elas se encontram as principais responsáveis por meningites. Com efeito, este mecanismo é a estratégia mais disseminada no que toca à evasão ao sistema do Complemento, utilizada não só por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, como também por alguns vírus, fungos, e até mesmo parasitas(14).

No caso das bactérias Gram-negativas, temos em primeiro lugar, a *Escherichia coli*, cujos exopolissacarídeos de ácido siálico presentes na cápsula de serotipo K1 ou o N-acetil heparosano não sulfatado nas cápsulas de serotipo K5 são capazes de recrutar o factor H(15). Para além disso, *E. coli* também expressa uma proteína de membrana externa, a OmpA, que recruta C4BP(16). Recorda-se que o C4BP é um regulador da ativação do Complemento que serve como cofactor na degradação de C4 em conjunto com o factor I e que previne a formação das convertases da via Clássica e das Lectinas. Portanto, o recrutamento de C4BP, juntamente com a própria composição e serotipo da cápsula, são os fatores que contribuem fortemente para que *E. coli* K1 consiga sobreviver no soro e causar meningites em recém-nascidos. A capacidade de *Haemophilus influenzae* evadir-se ao Complemento é altamente variável entre isolados. Os que expressam a proteína de membrana externa P5, ou OmpP5, conseguem uma maior sobrevivência dado que esta se liga ao factor H(17). Na *Neisseria spp.* a

importância do recrutamento do factor H deve ser destacada porque a proteína fHbp, ou proteína de ligação ao factor H, está bem documentada, como sendo uma das 4 componentes da vacina contra o serogrupo B de *Neisseria meningitidis*, Bexsero®(17). Por outro lado, *Neisseria gonorrhoeae* consegue captar o regulador C4BP através das suas porinas Por1A e Por1B, e através dos *pili* tipo IV(18).

No caso das bactérias Gram-positivas, começando pelo *Streptococcus pneumoniae*, cuja produção da proteína de superfície pneumocócica C, ou PspC é essencial para iludir a ativação do complemento(19). Este factor de virulência, altamente variável, tem capacidade para captar o factor H e que age como uma molécula de adesão ao ligar-se aos recetores nas células endoteliais vasculares, facilitando a invasão(19). Em *Streptococcus pyogenes* é a região hipervariável de várias proteínas M que se ligam ao fator H (20). Estas mesmas proteínas, nomeadamente os serotipos M4, M8, M18, M22 e M28, são reconhecidas como capazes de se ligar a C4BP(20). Por último, em *Streptococcus agalactiae* encontra-se descrita na literatura a adesina bacteriana imunogénica do *Streptococcus* B, a BibA, que é também ela capaz de recrutar C4BP, para além de promover a adesão às células epiteliais. O gene da BibA encontrava-se presente em 100% das 24 estirpes de *S. agalactiae* analisadas(21). Relativamente a *Staphylococcus aureus*, a proteína sbi é mais conhecida como sendo uma proteína ligante de IgG(22). Recentemente, esta proteína de superfície apresenta-se agora como ligante do factor H, cuja ligação é mediada por C3b, formando um complexo tripartido(22). Os locais de ligação a C3b e a IgG são distintos(22). A proteína Sbi é então uma proteína multifacetada, que para além de bloquear a ativação da via Clássica impedindo a ligação de C1q aos anticorpos, representa também um mecanismo de aquisição do factor H (18).

Por outro lado, as espiroquetas e o seu grupo de lipoproteínas CRASP, acrónimo inglês para proteínas superficiais de aquisição de reguladores do complemento, são merecedoras de destaque pela eficiência com que são capazes de recrutar o Factor H, e o FHL-1, e outros fatores relacionados com o factor H, ou seja, da família do mesmo(23). As CRASP foram identificadas não só em *Borrelia burgdorferi*, como também em outras espécies de espiroquetas pertencentes ao género *Borrelia*, tal como *B. afzelii*, *B. spielmanii*, e *B. bavariensis*(23). Resumidamente, estão descritas na literatura 5 lipoproteínas CRASP: a CspA, ou CRASP-1, a CspZ, ou CRASP-2, e as

outras 3 proteínas (ErpA, ErpC e ErpP) foram denominadas coletivamente por OspE, apesar de terem sequências distintas(23).

Concluindo, a ligação do fator H a C3b vai estimular um consumo fútil de C3b de forma a proteger a bactéria, mas por outro lado impede a ativação do Complemento pela Via Alternativa. Este mecanismo apresenta muitas vantagens importantes: os reguladores encontram-se ativos e prontos a desempenhar as suas funções, são produzidos pelo hospedeiro e como tal estão disponíveis em elevadas concentrações, por fim, partilham características estruturais comuns o que permite que a mesma proteína do patógeno seja capaz de recrutar diferentes reguladores(14).

5.3 Inativação por degradação enzimática

A degradação dos componentes do Complemento em fragmentos não funcionais é um mecanismo que se encontra afirmado quase exclusivamente em bactérias. Trata-se de proteases produzidas pelos invasores que são capazes de destruir vários componentes do Complemento no hospedeiro. Os exemplos das espécies mais importantes que utilizam este mecanismo são a *Pseudomonas* e *Serratia marcescens*, pertencente ao grupo das bactérias Gram-negativas, *Streptococcus* e *Staphylococcus*, pertencentes ao grupo das bactérias Gram-positivas.

Começando pelas bactérias Gram-negativas, a *Pseudomonas* escapa à Via de Ativação Clássica através da produção das seguintes proteases: *Pseudomonas* elastase (PaE) e protease alcalina (PaAP). Estas enzimas são capazes de degradar imunoglobulinas e C1q do Complemento, pelo que afeta a deposição de C3b pela via Clássica e pela via das Lectinas, mas a via Alternativa mantém-se inalterada(24). Outras espécies que utilizam este mecanismo de evasão é por exemplo *Serratia marcescens*, que também produz uma protease responsável pela clivagem de C5a(25). Esta protease de 56 KDa é capaz de inibir a atividade de C5a, sendo este o principal agente quimiotático originado no soro após ativação pelo Complemento(25). Logo, algumas estirpes de *Serratia marcescens* produzem uma fraca resposta imunitária por parte do hospedeiro. De facto, a protease de 56KDa consegue clivar fibronectina, colagénio, as imunoglobulinas A e G, e outras proteínas plasmáticas, nomeadamente α_2 macroglobulina e lisozima(25).

Relativamente às bactérias Gram-positivas, os estreptococos do grupo A desenvolveram a inativação do Complemento por degradação enzimática através da produção de uma C5 peptidase, designada por ScpA(26). Enquanto ScpA cliva especificamente C5, SpeB cliva também C3 e C3a, libertando fragmentos de tamanho anormal e não-funcionais(26). Como consequência, os estreptococos ficam menos opsonizados, e as células do sistema imunitário não são adequadamente ativadas, por inativação do sinal quimiotático e pró-inflamatório de C5a. Para além disso, ScpA medeia a adesão de *Streptococcus* a células do epitélio e do endotélio. Por outro lado, a exotoxina B pirogénica de *Streptococcus* degrada o regulador do Complemento properdina, pelo que perde a sua capacidade de estabilizar as convertases à superfície do patógeno. Também o *Staphylococcus aureus* desenvolveu uma estratégia com proteases, que embora indireta, é uma forma eficiente de contrariar o Complemento. Trata-se da produção de estafiloquinase (SAK), uma proteína inativa que complexa com o plasminogénio do hospedeiro para se converter na protease de serina ativa, a plasmina(27). Para além da função óbvia de lise das redes de fibrina nos microcoágulos, promovendo a sua dissolução, seguida da disseminação dos microrganismos, a plasmina tem um espectro de substratos alargado, do qual fazem parte o próprio C3b, C5 e as IgG(27). Apesar da atividade de anti-opsonização da plasmina ativada à superfície ter sido apenas descrita para o *S. aureus*, a presença de ativadores de plasminogénio noutras bactérias sugere que esta estratégia seja mais prevalente(27).

5.4 Inibição por interação direta com proteínas de origem bacteriana

Até agora tratámos de mecanismos em que são aproveitados os reguladores pertencentes ao hospedeiro e de mecanismos em que existe efetivamente uma clivagem enzimática. Para além destes, existem mecanismos que envolvem uma interação proteica, entre proteínas bacterianas e proteínas do Complemento, com a finalidade de inibir ou de modular o funcionamento do sistema Complemento. Algumas destas proteínas bacterianas são inibidores diretos do Complemento, a maioria pertencendo a *Staphylococcus aureus*, mas algumas podem simplesmente causar a depleção de componentes do Complemento em fase fluida, dos quais são exemplo a *Streptococcus pneumoniae*. Todas estas proteínas bacterianas vão atuar no Complemento a diferentes

níveis, interferindo com componentes distintos, pelo que devem ser especificadas consoante o componente com o qual estão envolvidas.

Interação ao nível de C1

Começando pelos estreptococos, *S.pneumoniae* secreta uma endopeptidase O, (PepO) que se liga a C1q induzindo a depleção deste componente em fase fluida, pelo que diminui a disponibilidade do mesmo para ativar o Complemento através da via Clássica(28).

Interação ao nível de C3

Efetivamente, *S. aureus* destaca-se neste tipo de mecanismos de evasão. Os estafilococos produzem 5 proteínas, conhecidas até agora, capazes de ligarem-se a componentes do Complemento modulando a sua função. Estas proteínas são a Efb, Ehp, Eap, SCINs e CHIPS. Em primeiro lugar, a proteína extracelular de ligação ao fibrinogénio, Efb, foi a primeira proteína ligante de C3 a ser identificada em *S. aureus*. De facto, esta proteína ao ligar-se a C3, demonstrou inibir a opsonização e a fagocitose por granulócitos(29). Por outro lado, foi reportada uma nova proteína, sendo esta homóloga de Efb, a Ehp. Paralelamente, Ehp é capaz de se ligar a duas moléculas de C3, logo, é um inibidor da conversão de C3 mais potente que o anterior. Ambas as proteínas produzem o seu efeito inibitório pela indução de modificações conformacionais em C3, que tornam o componente central do Complemento incapaz de participar nos eventos de ativação subsequentes, e impedindo que ocorra a opsonização bacteriana(30). Também proveniente de *S. aureus* é outro grupo de proteínas pequenas em hélice que bloqueiam a ativação do Complemento, denominadas SCINs. As SCINs têm a função de estabilizar a convertase C3 num estado não funcional, desta forma bloqueando eficientemente as três vias de ativação. De realçar que, ao contrário de Efb e Ehp, as SCINs apenas se ligam a convertases que já estejam montadas, e não a C3 ou aos seus fragmentos(31).

Interação ao nível de C4

Outra das proteínas mencionadas anteriormente, a Eap, é uma proteína de aderência extracelular secretada pelos estafilococos com a capacidade para se ligar a várias glicoproteínas da matriz extracelular. Para além disso, liga-se também a C4b e bloqueia a formação da convertase C4b2a, ou seja, a convertase das vias Clássica e das Lectinas(32).

Interação ao nível de C5

Em adição à interferência ao nível de C3 e C4, *S. aureus* produz mais duas proteínas que perturbam os eventos pró-inflamatórios realizados por C5 e os seus produtos de ativação. Estas são a SSL-7 e a CHIPS. A SSL-7 liga-se a C5 com alta afinidade tornando-o indisponível na participação nos eventos de ativação subsequentes(33). A CHIPS enfraquece a resposta dos neutrófilos e dos monócitos ao sinal de C5a, pela interação com os recetores da mesma, onde funciona como antagonista(34). A C5a do hospedeiro, e a CHIPS de origem estafilocócica, competem pelo mesmo recetor(34).

Interação ao nível do Complexo de ataque à membrana

Por fim, foi encontrada uma nova proteína, designada inibidor estreptocócico do Complemento, ou SIC, que previne a formação do MAC através da interferência com os complexos C5b-C7 e C5b-C8. A existência de SIC pode ser paradoxal, ou pelo menos redundante, visto que os estreptococos já são, devido à estrutura da sua parede bacteriana, resistentes à lise mediada pelo MAC(35).

Quando às espiroquetas, muito recentemente foi descoberto que *B.burgdorferi*, responsável pela Doença de Lyme, possui uma proteína semelhante ao regulador CD59, na sua membrana, com afinidade para C8b e C9, inibindo a formação do MAC à superfície destas bactérias(36).

5.5 Outros mecanismos

As bactérias Gram-negativas também usam proteínas da membrana externa como forma de escape à deteção pelo Complemento. Os genes de *K. pneumoniae* que codificam para as lipoproteínas associadas a peptidoglicanos (Pal) e lipoproteínas mureina (LppA), ambas proteínas da membrana externa, foram relacionados com a sobrevivência no soro, ou seja, escape ao sistema do Complemento. Isto porque quando estes genes foram deletados, verificou-se uma redução na sobrevivência ao soro(37). Também em *E. coli* uropatogénica, identificou-se a LppA como uma proteína importante para a sobrevivência ao soro(38). Apesar destas indicações, fica por esclarecer a forma como estas proteínas possibilitam o escape ao complemento e a diminuição da fagocitose.

6. Conclusões

As interações proteína-proteína altamente específicas são a força motora por trás dos mecanismos sofisticados de ativação e regulação do sistema do complemento. De forma a conseguirem evadir à ação do complemento, as estratégias mais conhecidas passam pela expressão de uma cápsula extracelular, ou no refúgio dentro de células do hospedeiro, em vacúolos, ou no citoplasma, como é bem conhecido em *Mycobacterium tuberculosis*. Recentemente provou-se que as bactérias também escapam ao complemento através da ação de proteínas de membrana, ou de proteínas secretadas. Estas proteínas vão essencialmente desempenhar uma de três funções, sendo elas o recrutamento de reguladores do complemento do hospedeiro, a clivagem enzimática de elementos do complemento ou a ligação aos mesmos para modular ou inibir a sua atividade.

A distinção na ação do Complemento ao nível das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas torna-se evidente pela estrutura da própria parede celular. Devido a esta mesma estrutura, a remoção das bactérias Gram-negativas é mediada pelo complemento em si. Pelo contrário, a remoção das bactérias Gram-positivas parece depender apenas da fagocitose mediada por C3b e C5a. Simplesmente foi assumido que, para este grupo de bactérias, seria a sua extensa camada de peptidoglicano que as protege da ação do Complexo de ataque à membrana. No entanto, este grupo de bactérias desenvolveu um largo número de proteínas que lhes permite escaparem à ação do Complemento, sendo os seus mecanismos de evasão refinados e específicos. Estes mecanismos têm muita importância, pois concentram-se na fuga durante os passos iniciais, de amplificação e pró-inflamatórios da ativação do Complemento, visto que, apesar de não serem suscetíveis à formação do MAC, estas bactérias continuam a estar sujeitas à opsonização e à fagocitose.

Assim, deveriam ser feitos mais estudos a nível dos processos de fuga das bactérias Gram-positivas, por dois aspetos: em primeiro lugar, porque existem menos estudos disponíveis do que relativamente ao grupo das bactérias Gram-negativas, e em segundo lugar, para esclarecer a relação que existe entre este tipo de bactérias e o MAC, visto que foram encontrados em algumas destas bactérias, um MAC completamente montado à sua superfície(8).

No geral, os microrganismos necessitam de múltiplas estratégias de evasão. O exemplo mais proeminente vem de *Staphylococcus aureus* que codifica para pelo menos 7 moléculas, sendo que 5 delas ligam-se e modulam elementos do Complemento, uma delas atua através de degradação enzimática, a SAK, e a outra molécula, Sbi, recruta o factor H nos mamíferos. Em termos de mecanismos, as estratégias proeminentes utilizadas por *S. aureus* são a inibição direta de C3, que por ser um elemento-chave, é o alvo mais óbvio, mas também das próprias convertases e de C5, evitando a sua clivagem, ou através de antagonistas do recetor C5a nos neutrófilos. Quanto aos estreptococos, tanto *S. pyogenes* quanto os *S. agalactiae* secretam C5a peptidases que degradam enzimaticamente C5.

Em conclusão, a identificação das moléculas bacterianas responsáveis pelo escape ao complemento é um tema que merece particular atenção, devido à sua vastidão e emergência recente. Esta torna-se uma boa temática para o desenvolvimento de novos estudos, pois são fundamentais na compreensão da patogénese bacteriana, e de novas descobertas nesta área, nomeadamente no desenvolvimento de vacinas. Seja tomado como exemplo o desenvolvimento da vacina contra *Neisseria meningitidis*, a Bexsero®, que se baseou em antígenos envolvidos na evasão bacteriana ao complemento, a fHbp, a NadA, PorA e NHBA(39). Moléculas expostas à superfície bacteriana são conhecidas por serem excelentes antígenos vacinais dado que servem como alvos para anticorpos de ativação do complemento(5). Recentemente, a triagem genómica alargada (também conhecida como vacinologia reversa) identificou várias novas proteínas candidatas a vacinas que são bons alvos para anticorpos fixadores de complemento. Os exemplos mais notáveis são a fHbp da *Neisseria spp.*, pili dos *Streptococcus* do grupo A e B e PspC de *S. pneumoniae*(5). Os anticorpos dirigidos contra fHbp têm vários modos de ação. Os que exibem atividade bactericida sérica podem mediar a lise bacteriana direta através da via clássica do complemento e também promover fagocitose e subsequente morte celular. Paralelamente, os anticorpos específicos de fHbp podem bloquear a ligação do fator H, aumentando a suscetibilidade bacteriana à morte pela via alternativa(5). Com o objetivo do desenvolvimento de novas vacinas, o tema da evasão bacteriana ao complemento é bastante promissor e continuará a ser explorado nos próximos tempos.

7. Referências Bibliográficas

1. Owen, J., Punt, J., Stranford S. Kuby Immunology. 7ª edição. Company WHF and, editor. New York; 2009. 189-201 p.
2. Janeway, Travers, Walport, Shlomchik. Immunobiology: The immune system in health and disease. 6th ed. Garland Publishing; 2004.
3. Playfair, J. and Bancroft G. Infection and Immunity. 4th ed. Oxford University Press; 2013. 116-117 p.
4. Murray, P., Rosenthal, K., Kobayashi, G., Pfaller M. Microbiologia Médica. 4ª edição. Guanabara Koogan; 101-103 p.
5. Serruto D, Rappuoli R, Scarselli M, Gros P, Strijp JAG Van. Molecular mechanisms of complement evasion: learning from staphylococci and meningococci. Nat Rev. 2010;8:393–9.
6. Ferreira, W., Sousa JC et al. Microbiologia. Edições té. Lidel; 1998. 26-35 p.
7. Morgan BP, Boyd C, Bubeck D. Molecular cell biology of complement membrane attack. Semin Cell Dev Biol. 2017;72:124–32.
8. Sciences CL. The bactericidal mechanism of the complement membrane attack complex Author : Lars Ootes Master : Molecular and Cellular Life Sciences Examiner : Suzan Rooijakkers. 2014;
9. Dudkina N V, Spicer BA, Reboul CF, Conroy PJ, Lukoyanova N, Elmlund H, et al. complement membrane attack complex. Nat Commun. 2016;7:1–6.
10. Pathology E. Bacterial killing by complement. 1987;244:393–9.
11. Taylor PW. Complement-mediated killing of susceptible gram-negative bacteria: an elusive mechanis. Experimental and clinical immunogenetics 9:1. 1992. p. 48–56.
12. McCarthy, A., Stabler, R., Taylor P. Genome-Wide Identification by Transposon Insertion of Escherichia coli K1 Genes Essential for In vitro Growth, Gastrointestinal Colonizing Capacity, and Survival in Serum. J Bacteriol. 2018;200(7):1–19.
13. Doorduijn DJ, Rooijakkers SHM, van Schaik W, Bardoel BW. Complement resistance mechanisms of Klebsiella pneumoniae. Immunobiology. 2016;221(10):1102–9.
14. Lambris, J. D., Ricklin D., Geisbrecht, B. V. Complement evasion by human pathogens. Nat Rev Microbiol. 2008;6(2):1–22.

15. Taylor PW. Bactericidal and Bacteriolytic Activity of Serum Against GramNegative Bacteria. 1983;47(1):46–83.
16. Prasadarao N V., Blom AM, Villoutreix BO, Linsangan LC. A Novel Interaction of Outer Membrane Protein A with C4b Binding Protein Mediates Serum Resistance of Escherichia coli K1 . J Immunol. 2002;169(11):6352–60.
17. Langereis JD, Jonge MI De, Weiser JN. Binding of human factor H to outer membrane protein P5 of non-typeable Haemophilus influenzae contributes to complement resistance. 2015;94(1):89–106.
18. Ram BS, Cullinane M, Blom AM, Gulati S, Mcquillen DP, Monks BG, et al. Binding of C4b-binding Protein to Porin : A Molecular Mechanism of Serum Resistance of Neisseria gonorrhoeae. 2001;193(3).
19. Van der Maten, Erika et al. Streptococcus pneumoniae PspC Subgroup Prevalence in Invasive Disease and Differences in Contribution to complement evasion. Infect Immun. 2018;86(4):1–10.
20. Kraiczy P, Reinhard W. Complement escape of human pathogenic bacteria by acquisition of complement regulators. 2006;43:31–44.
21. Santi I, Scarselli M, Mariani M, Pezzicoli A, Masignani V, Taddei A, et al. BibA : a novel immunogenic bacterial adhesin contributing to group B Streptococcus survival in human blood. 2007;63(January):754–67.
22. Richter J, Haupt K, Reuter M, Elsen J Van Den, Burman J, Ha S, et al. The Staphylococcus aureus Protein Sbi Acts as a Complement Inhibitor and Forms a Tripartite Complex with Host Complement Factor H and C3b. 2008;4(12).
23. Kraiczy, Peter e Stevenson B. Complement regulator-acquiring surface proteins of Borrelia burgdorferi: Structure, function and regulation of gene expression. Ticks Tick Borne Dis. 2013;4(0):26–34.
24. Laarman AJ, Bardoel BW, Ruyken M, Fernie J, Milder FJ, van Strijp JAG, et al. Pseudomonas aeruginosa Alkaline Protease Blocks Complement Activation via the Classical and Lectin Pathways. J Immunol. 2012;188(1):386–93.
25. All NY. Inactivation of Chemotactic Activity of C5a by the Serratal. 1990;58(5):1269–72.
26. Lynskey NN, Reglinski M, Calay D, Siggins MK, Mason JC, Botto M, et al. Multi-functional mechanisms of immune evasion by the streptococcal complement inhibitor C5a peptidase. 2017;1–29.

27. La K, Kuusela P, Korhonen TK. Bacterial plasminogen activators and receptors. 2001;25.
28. Honda-ogawa M, Sumitomo T, Mori Y, Hamd DT, Ogawa T, Yamaguchi M, et al. Streptococcus pyogenes Endopeptidase O Contributes to Evasion from Complement-mediated Bacteriolysis via Binding to Human Complement Factor C1q * Edited by Luke O ' Neill. 2017;292(10):4244–54.
29. Lee L. Y. et al. Inhibition of complement activation by a secreted Staphylococcus aureus protein. J Infect Dis. 2004;190:571–9.
30. Hammel M. et al. A structural basis for complement inhibition by Staphylococcus aureus. Nat Immunol. 2007;8:430–7.
31. Rooijackers S. H. M. et al. Immune evasion by a staphylococcal complement inhibitor that acts on C3 convertases. Nat immunol. 2005;6:920–7.
32. Woehl, J. L., Stapels, D. A., Garcia, B. L., Ramyar, K. X., Keightley, A., Ruyken, M. et al. The extracellular adherence protein from Staphylococcus aureus inhibits the classical and lectin pathways of complement by blocking formation of the C3 pro-convertase. immunol. 2015;19:161–9.
33. Langley R. et al. The staphylococcal superantigen-like protein 7 binds IgA and complement C5 and inhibits IgA-FcαRI binding and serum killing of bacteria. J immunol. 2005;174:2926–33.
34. de Haas C. J. et al. Chemotaxis inhibitory protein of Staphylococcus aureus, a bacterial antiinflammatory agent. J Exp Med 2004. 2004;199:687–95.
35. Joiner, K. et al. Studies on the mechanism of bacterial resistance to complement-mediated killing. C5b-9 deposits stably on rough and type 7 S. pneumoniae without causing bacterial killing. imunol. 1983;130:845–9.
36. Pausa M, Pellis V, Cinco M, Piero G, Presani G, Perticarari S, et al. Serum-Resistant Strains of Borrelia burgdorferi Evade Complement-Mediated Killing by Expressing a CD59-Like Complement Inhibitory Molecule. J Immunol. 2003;170:3214–22.
37. Hsieh P-F, Liu J-Y, Pan Y-J, Wu M-C, Lin T-L, Huang Y-T, et al. Klebsiella pneumoniae Peptidoglycan-Associated Lipoprotein and Murein Lipoprotein Contribute to Serum Resistance, Antiphagocytosis, and Proinflammatory Cytokine Stimulation. J Infect Dis. 2013;208(10):1580–9.
38. Phan M, Peters KM, Sarkar S, Lukowski SW, Allsopp LP, Moriel DG, et al. The Serum Resistome of a Globally Disseminated Multidrug Resistant

Uropathogenic Escherichia coli Clone. 2013;9(10).

39. CHMP. Bexsero, common name - meningococcal group B Vaccine (rDNA, component, adsorbed)
https://www.ema.europa.eu/en/documents/productinformation/bexsero-epar-product-information_pt.pdf